Comparison of Tissue Damages Resulting from Chronic Administration of Manganese Dioxide Nano- and Microparticles on the Liver, Kidneys and Testes of Rats

Sedigeh Ghaedi¹, Majid Hassanpour-Ezatti^{2*}, Tahereh Naji³, Mohammad Safi Rahmanifar²

- 1- M.Sc. Department of Toxicology & Pharmacology, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
- 2- Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Scienses, Shahed University, Tehran, Iran
- 3- Assistant Professor, Department of Toxicology & Pharmacology, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

*Corresponding Address: P.O.Code: 3319118651, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahed University, Opposite of Holy Shrine of Imam Khomeini, Khalij Fars Expressway, Tehran, Iran Email: Hassanpour@shahed.ac.ir

Received: 02/Dec/2013, Accepted: 11/Jan/2014

Abstract_

Objective: This study investigated tissue damages induced by chronic subcutaneous administration of nano- and microparticles of manganese dioxide (MnO_2) on the liver, kidneys and testes of rats.

Methods: Rats (n=210) were divided into three groups: control, MnO_2 nanoparticle injected and MnO_2 microparticle injected. The experimental groups received subcutaneous injections with either nano- or microparticles of a solution that contained MnO_2 (100 µg/kg) once per two weeks for 14 weeks. Once every two weeks, we randomly selected five rats from each group for histological evaluations of the liver, kidneys, and testes. Tissue lesions were initially evaluated by hematoxylin and eosin staining, then kidney and liver tissue sections were stained by the Jones and Masson's trichrome methods, respectively. The changes in diameter of basement membrane and cell numbers of the various parts of the nephrons in different groups were measured by Image Tools version 2 software.

Results: The liver tissues of the nano- and microparticle groups exhibited severe damage histopathologically. Cloudy swelling was observed in the cytoplasm of hepatocytes. The liver tissue and its canaliculi structures were severely damaged. Inflammation and ductular reaction signs were seen in liver tissue. Deposition of particles in the basement membrane of the nephrons were observed in the nanoparticle-treated group. There was a significant reduction in glomerular and tubular cells in the nanoparticle-treated group compared to the control and microparticle-treated groups. Some of the structural and functional parameters of the testes in the nanoparticle-treated group had significant pathobiological variations.

Conclusion: Administration of MnO_2 nanoparticles when compared with the same dose of MnO_2 microparticles caused more tissue damage in all examined tissues. Reduction in particle size from micrometer to nanometer appeared to exacerbate the damaging mechanisms of these particles in the examined tissues.

Keywords: Nanoparticles, Microparticles, Manganese dioxide, Tissue injuries

Modares Journal of Medical Sciences: Pathobiology, Vol 16, No 4, Winter 2014, Pages: 67-81 -

67

Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-05-13

Modares Journal of Medical Sciences: Pathobiology, 16(4), Winter 2014

مقایسه آسیبهای بافتی حاصل از تجویز مزمن نانو و میکرو ذره دی اکسید منگنز بر بافتهای کبد، کلیه و بیضه موشهای بزرگ

صديقه قائدى'، مجيد حسن پور عزتى'*، طاهره ناجى"، محمدصفى رحمانىفر

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه سمشناسی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران ۲- استادیار، گروه زیستشناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد، تهران، ایران ۳- استادیار، دانشکده علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

*آدرس نویسنده مسئول: ایران، تهران، کدپستی: ۱۳۳۱۹۱۱۸۶۵۱، دانشگاه شاهد، دانشکده علوم پایه، گروه زیستشناسی Email: Hassanpour@shahed.ac.ir

پذیرش مقاله: ۹۲/۱۰/۲۱

هدف: این پژوهش به بررسی آسیبهای بافتی ناشی از تجویز زیرجلدی مزمن میکرو و نانو ذره اکسید منگنز بر بافتهای کبد، کلیه و بیضه موشرهای بزرگ پرداخته است.

مواد و روشها: موشها (۲۱۰ سر) به سه گروه کنترل، دریافت کننده نانو و میکرو ذره اکسید منگنز تقسیم شدند. موشها در گروههای تجربی، هر دو هفته یکبار به مدت ۱۶ هفته به صورت زیرجلدی محلول حاوی نانو یا میکروذرات دی اکسید منگنز (۱۰۰ میکرو گرم/کیلو گرم) را دریافت کردند. تعداد ۵ سر موش از هر گروه به طور تصادفی هر دو هفته انتخاب و بافتهای کبد، کلیه و بیضه آنها برای بررسی بافتشناسی جمع آوری شد. ابتدا آسیبهای بافتی توسط رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین ارزیابی شد، سپس برشهای بافت کلیه و کبد به ترتیب توسط رنگ آمیزی جونز و تری کروم ماسون رنگ آمیزی شدند. تغییر در ضحامت غشای پایه و تعداد سلولهای بخشهای مختلف نفرونهای کلیه در گروههای مختلف توسط نرمافزار 2 Image Tools اندازه گیری شد.

نتایج: بافت کبدی در گروههای نانو و میکرو ذره از نظر بافتشناسی آسیبهای شدیدی را نشان داد. تودههای ابری شکلی در درون سیتوپلاسم سلولهای کبدی مشاهده شدند. ساختار بافتی و مجاری صفراوی کبد دچار به هم ریختگی شدید شدند و علایم التهاب و واکنش مجاری در بافت کبدی مشاهده شد. رسوب ذرات در غشای پایه نفرونها و کاهش معنیدار در سلولهای گلومرولها و لوله خمیده نزدیک نفرونها در گروه نانو ذرات در مقایسه با کنترل و میکرو ذرات مشاهده شد. برخی معیارهای ساختاری و عملکردی بافت بیضه در گروه دریافت کننده نانو ذرات تغییرات پاتوبیولوژیکی معنیداری را نشان دادند.

نتیجهگیری: تجویز نانو ذرات دی اکسید منگنز در مقایسه با میکرو ذرات بـا یـک دوز ثابـت سـبب بـروز آسـیبهـای بـافتی شدیدتری در بافتهای مورد بررسی شدند. کاهش اندازه ذرات اکسید منگنز از حد میکرومتر به نانومتر بـه نظـر مـیرسـد کـه سبب تشدید مکانیسمهای آسیبرسان این ذرات بر بافتهای مورد بررسی شده است.

کلیدواژگان: نانو ذره، میکرو ذره، دی اکسید منگنز، آسیبهای بافتی

در بافت مقاله: ۹۲/۰۹/۱۱

چکیدہ -

—— مجله علوم پزشکی مدرس: آسیب شناسی زیستی، دوره ۱۶، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۲، صفحات: ۶۷–۸۱

Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-05-13

است، ولي در اين ارتباط ميتوان به بررسي آسيبهاي ناشمي از مصرف خوراکی نانو ذرات مس بر لوله خمیده نزدیک نفرون ها [٩] یا گلومرونفریت و تخریب لوله خمیده نزدیک به دنبال مصرف خوراکی نانوذرات تیتانیوم دی اکسید (Titanium Dioxide) اشاره کرد [۱۰]. همچنین مشخص شده که آسیب کبدی ناشی از نانو ذرات طلا وابسته به عوامل مختلفي چون غلظت، مدت تماس و به خصوص اندازه این ذرات است [۱۱]. مستنداتی در ارتباط با آسیبهای وارده به بافت بیضه ناشی از تماس با نـانو ذرات فلزي و از این طریق بر فعالیت تولید مثلی موجودات زنده در دست است. برای مثال، آثار دو اندازه مختلف نانو و میکرو ذرہ اکسید سریوم (Cerium Oxide) بر فرآیند تولید اسپرم در موش بزرگ مطالعه شده است [۱۲]. اما در ارتباط بـ آثار آسیب بافتی به دنبال تماس با اکسید منگنز و به عنوان پیشزمینهای از تحقیق حاضر میتوان به گزارش هابسلند (Hobbesland) و همکاران اشاره کرد. این یژوه شگر بر اساس آزمایش هایی که روی کارگران معادن منگنز انجام داد، مدعی شده است که به دلیل بالا بودن سطح اکسید منگنےز در این معادن و تماس طولانی مدت کارگران با آن، عوارض ناخواستهای چون سرطان کبد و مشکلات ادراری و تناسلی در این کارگران بروز کرده است [۱۳]. این نتایج منجر به ایـن امـر شد تا دانشمندان به کارفرمایان این معادن توصیه کنند تا زمان کاری این کارگران را کاهش دهند [۱٤]. گرچه اطلاعات آزمایشگاهی قبلی از بررسی آثار اکسید منگنز بر عملکرد دستگاه تناسلی نر در حیوانات در دست نیست، ولی تاکنون یافتههای محدودی بر بروز آسیب بر ساختارهای تناسلی نرینه به دنبال تماس با دیگر نانو ساختارها منتشر شدهاست [۱٥-١٧]. به عنوان ضرورت انجام مطالعات بافتشناسی عـلاوه بـر دیگر مطالعات بالینی در ارتباط با آثار نانو ذرات بر بافت. در تماس با این ذرات باید به این یافته اشاره شود که برخی از نانو ذرات مانند اکسید تیتانیوم با وجود اثر بر هورمون گنادوتروپینی و ایجاد اختلال در فرآیندهای تولید هورمون های جنسی فاقد آثار مستقیم بر بافت بیضوی و سلولهای تولید مثلبی

مقدمه

اکسید منگنز (MnO₂) ترکیبی با مصارف روزافزون در صنعت است و در تولید غربال مولکولی، به عنوان کاتالیزور قوی در واکنش های شیمیایی و به عنوان ماده اولیه تولید الکترود باتریها استفاده می شود. این ترکیب همچنین در حال حاضر در ساخت انواع فنآوریهای نانو مانند نانو بلورهای نیمه هادی و نانو ساختارهای سه بعدی مصنوعی کاربرد دارد [۱]. این اکسید فلزی در قارچکشهای کشاورزی و در ترکیب ماده حاجب مورد مصرف بيماران در تصويربرداري رزونانس مغناطيسي (Magnetic Resonance Imaging) نيےز استفادہ می شود. با توجه به این که ترکیبات دارای عناصر فلزی نقش مهمی در ایجاد مسمویتها ایفا میکند، ارزیابی آسیب ناشی از تماس مزمن با اکسید منگنز بر بافت های مختلف می تواند اهمیت فراوانی در تشخیص عوارض و شناسایی آسیبهای بافتی ناشی از تماس با این ترکیب داشته باشد [۲]. ویژگیهای خاص نانو ذرات فلزی ناشی از ابعاد کوچک آنها، افرایش سطح به حجم أنها و تقويت توان أنها در واكنش هاي شيميايي سبب شده تا استفاده از أنها به عنوان كاتاليزور، کاربرد صنعتی روزافزونی یابد [۳]. برخی از نانو ذرات در هـر دو شرایط برون تنی [٤] و درون تنی [٥] از خود آثار سمی نشان میدهند، این در حالی است که برخی دیگر فقط در ابعاد نانو دارای آثار سمی بوده و در ابعاد میکرو فاقد اثر سمی هـستند. نانوذرات به هر روشمی که تجویز شوند به دنبال ورود به گردش خون در نهایت به بافت کبدی میرسند و در آن تجمع مییابند [٦]. بافت کلیوی به دلیل دارا بودن جریان خون بالا یکی دیگر از بافتهای تجمع نانو ذرات در بدن محسوب شده و نشان داده شده که بین اندازه نانوذرات و میزان توزیع و تجمع این ذرات در این بافت رابط ه مستقیم وجود دارد [۷]. بدین ترتیب بافت کلیوی و کبدی به عنوان بافت های اصلی تجمع و در معرض خطر آسیبهای نانو ذرات به دنبال ورود این ذرات به بدن محسوب میشوند [۸]. گرچه یافته های مبنی بر آثار آسیبرسان نانو ذرات فلزی بر عملکرد کلیوی محدود

ارزیابی شدهاست [۱۸]. بنابراین بررسی آسیبهای بافتی ناشی از تماس با نانو ذرات می تواند تصویر کامل تری از تمامی اختلالات ناشمی از تماس با یک نانو ذره را فراهم آورد. امروزه رنگآمیزیهای مختلفی برای ارزیابی آثار نانو ذرات بر بافت کبدی [۱۹]، کلیوی و بیضه [۲۰] به کار گرفته می شوند که از ایـن میـان رنگ آميزي هماتو کسيلن – ائوزين (& Hematoxylin-Eosin: H E) با موفقیت توانسته است موارد تأیید کننده خوبی از آثار آسیبرسان این نانو ذرات بر بافتهای بدن را مشخص کند. رنگآمیزی جونز (Jones' Staining) نیز یک رنگآمیزی تخصصی در ارزیابی دقیق آثار نانو ذرات فلزی بر کلیهها است [۳]. این رنگآمیزی امکان بررسی آسیبهای وارده به غـشای پایمه در ناحیمه مویرگههای گلومرولی را فراهم میآورد. رنگآمیزی تری کروم ماسون (Masson's Trichrome Stain) روش تخصصی ارزیابی آسیبهای ناشی از فیبروز در کبد است [۲۱]؛ برای مثال دانشمندی بنام کونے (Kong) و همکارانش از ایـن رنـگآمیـزی بـرای ارزیـابی آثـار نـانو ذرات LDL (-Low Density Lipoproteins) فاقد آپوپروتئين (Apoprotein) بر كبد استفاده كردهاند [۲۲]. ايـن پژوهـشگر بـا اسـتفاده از ايـن رنگآمیزی توانست موفقیت استفاده از این ذرات را در درمان بروز فيبروز كبدى به اثبات برساند. اما مطالعات اوليه در مورد آثار نانو ذرات بر بافت بیضه بیشتر به مطالعه توزیـع ایـن نـانو ذرات در این بافت اختصاص دارند و نـشان داده شـده کـه بـا وجود سد خون- بيضه نانو ذرات به دنبال تجويز در اين بافت تجمع مییابند [۲۳]. در این پژوهش برای بررسی و مقایسه آسیبهای بافتی ناشی از تجویز مزمن دو اندازه مختلف میکرو و نانو ذرات اکسید منگنز بر بافتهای کبد، کلیه و بیضه مـوش سفید بزرگ، نـانو ذرات (انـدازه ۲۵ تـا ۸۵ نـانومتر) و میکـرو ذرات (۳ میکرومتر) اکسید منگنز با غلظت ۱۰۰ میکروگرم/ کیلوگرم وزن بدن به مدت ۱٤هفت همر دو هفت ه یکبار به صورت زیر جلدی به این موش ها تجویز شدند. این غلظت براساس مطالعات قبلي محققان يروهش حاضر درباره أثار

آسیب رسان مختلف این ذرات انتخاب شده است و اثر بیوشیمیایی و سمیت عصبی تجویز این دوز قبلاً به اثبات رسیده است [۲۵، ۲۵]. نمونه های بافت های کبدی، کلیوی و بیضه موش ها هر دو هفته یکبار تهیه و پس از رنگآمیزی H & E روش جونز و بافت کبدی توسط روش تری کروم ماسون رنگآمیزی و بررسی شدند.

مواد و روشها حیوانات

موشهای بزرگ نر (۲۰۰–۲۰۰گرم) تهیه شده از مرکز پرورش حیوانات دانشگاه علوم پزشکی تهران به ۳گروه ۵ تایی (کنترل، دریافت کننده میکرو ذره و دریافت کننده نانو ذره اکسید منگنز) تقسیم شدند. این موشها در شرایط کنترل شده درجه حرارت، رطوبت، نور ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با دسترسی آزاد به آب و غذای کامل نگهداری شدند. تمامی موشها به مدت ۲ هفته قبل از شروع آزمایشها در قفس های نگهداری حیوانات در شرایط یکسان محیطی نگهداری شدند تا از نظر تطابق، آشنایی و رژیم غذایی به محیط عادت نمایند. تمامی آزمایشهای حیوانی مطابق قوانین کمیته اخلاقی دانشگاه انجام شدند.

ذرات اکسید منگنز

Merck میکرو ذره اکسید منگنز با خلوص بالا از شرکت Merck آلمان خریداری شد. ابعاد میکرو ذره اکسید منگنز مورد استفاده در این پژوهش ۳ میکرومتر بود [۲٦]. نانو ذرات اکسید منگنز به روش هیدرودرمال (Hydrothermal Procedure) با کمی تغییرات و با استفاده از همین ذرات میکرو اکسید منگنز در گروه زیستشناسی دانشگاه شاهد سنتز شد. این ذرات دارای

ابعادی در حدود ۲۵ تا ۸۵ نانومتر بودند.

روش ساخت نانو ذره اکسید منگنز

برای تهیه نانو ذره اکسید منگنز، ابتدا ۲۰ میلی لیتر KMnO₄ ب (۲/۰ میلی مولار) با ۱۲ میلی لیتر MnO₄ (۲/۱۰۰ میلی مولار) ب مدت ۵ دقیقه با هم مخلوط شدند. مخلوط نهایی مستقیماً به داخل یک اتوکلاو استیل با پوشش تفلون منتقل و به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد و سپس محصول حاصل در دمای اتاق سرد شد. محصول قهوهای رنگ حاصل جمع آوری و با آب مقطر و اتانول سه مرتبه شسته شد و توسط جریان هوا با دمای ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۲ ساعت خشک شد [۲۷]. اندازه نانو ذرات حاصل به کمک میکروسکوپ الکترونی بین ۲۵ تا ۸۵ میکرومتر تعیین شد.

روش تهیه محلول سوسپانسیون تزریقی از نــانو ذره و میکرو ذره اکسید منگنز

با توجه به میزان اندک حلالیت نانو و میکرو ذره اکسید منگنز در آب، برای تهیه محلول سوسپانسیون نانو یا میکرو ذرات ابتدا هر کدام از ذرات با غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میکرولیتر در سالین نرمال حل شدند. سوسپانسیونها قبل از تزریق توسط سونیکاتور (Sonicator) به مدت ۳۰ دقیقه سونیکه و سپس به صورت زیر جلدی به موشها تزریق شدند.

تشریح و نمونهبرداری بافتی

هر دو هفته یکبار ۵ سر موش به صورت تصادفی از هر گروه انتخاب و توسط اتر بیهوش شدند. اندامهای کبد، کلیه و بیضه موشها پس از تشریح با دقت و ظرافت به کمک پنس و قیچی جراحی جدا و در سرم فیزیولوژی شسته شدند. این اندامها از نظر وزن و از نظر ریختشناسی (Morphology) بررسی شده و نمونه همگی این اندامها در داخل فرمالین ۱۰ درصد تثبیت و

برای آزمایش های هیستوپاتولوژی (Histopathologic Tests) نگهداری شدند.

مراحل آمادهسازی لام بافتی

ابتدا نمونه های بافتی به ترتیب در الکل هایی ۷۰ درصد، ۸۰ درصد، دو مرتبه الکل ۹۰ درصد و دو مرتبه الکل ۱۰۰ درصد هر کدام به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. سپس بافتها با قرار گرفتن در گزیلن شفاف شده و توسط پارافین قالب گیری شدند. برش هایی به ضخامت ۷ میکرومتر توسط دستگاه میکروتوم از بافتها تهیه شد. سپس به منظور آبدهی برش ها به ترتیب به مدت ۱ دقیقه در محلول های الکل ۱۰۰ درصد تا ۵۰ درصد قرار گرفتند.

رنگ آمیزی E & H

برش های تهیه شده از این سه بافت توسط روش رنگ آمیزی H & H استاندارد به شرح زیر رنگ آمیزی واقع شد [۲۸]. برش ها به مدت ۱۰ دقیقه در هماتو کسیلین قرار داده شدند و پس از شستشو با آب به مدت ۱ ثانیه در اسید الکل قرار گرفتند. سپس مجدد با آب شستشو داده شدند و به مدت ۲ دقیقه در ائوزین قرار گرفتند. پس از آن به منظور حذف مجدد آب، بافتها به مدت ۱ دقیقه به ترتیب در الکل های ۵۰ درصد تا ۱۰۰ درصد قرار گرفتند و به منظور شفاف شدن، بافتها به مدت ۵ دقیقه در گزیلل قرار داده شدند.

بررسی بافتی

از هر نمونه ۳ لام به طور تصادفی انتخاب شد و در هر لام به طور تصادفی ۵ منطقه توسط میکروسکوپ نوری انتخاب و با بزرگنمایی ٤٠٠ برابر از آنها تصویر میکروسکوپی تهیه شد. برای تحلیل کمی بافت کلیه از رنگآمیزی H&E استفاده شد و به این منظور هستهٔ سلولهای گلومرولی (Nucleus)، هستهٔ سلولهای لولهٔ پیچیدهٔ نزدیک، متوسط قطر

بزرگ و قطر کوچک گلومرولها با استفاده از نرمافـزار Image 2 Tools محاسبه شدند.

روش رنگآمیزی تری کروم ماسون

این رنگ آمیزی برای تشخیص افزایش کلاژن و تعیین شدت فیبروز در بافت کبدی استفاده می شود [۲۹]، در این روش از سه رنگ به ترتیب برای رنگ آمیزی کلاژن، سیتوپلاسم و هسته سلول استفاده شد. این روش شامل رنگ آمیزی پشت سرهم رنگهای زیر است: رنگ آهن هماتو کسیلین (Iron Hematoxylin) که هستهها را مشکی می کند، رنگ Biebrich Scarlet که سیتوپلاسم را قرمز رنگ می کند و رنگ Aniline Blue یا Aniline Light

روش رنگآمیزی جونز

ابتدا برش های بافتی از بلوک های پارافینی کلیه تهیه شد. این برش ها پارافینزدایی و سپس توسط قرار گرفتن در غلظت های کاهشی از الکل آب دهی شدند. برش ها به مدت ده دقیقه به محلول اسید پریودیک (Periodic Acid) ٥/٠ درصد منتقل و سپس شستشو داده شدند. برش ها سپس به محلول منتقل و سپس شستشو داده شدند. برش ها سپس ابه محلول منتقل و در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت یک ساعت قرار گرفتند. پس از شستشو به مدت یک دقیقه به محلول Gold Chloride منتقل شدند و در نهایت پس از شستشو، مجدداً توسط غلظت های افزایش یابنده الکل آب گیری شدند.

تجزیه و تحلیل آماری دادهها

دادههای بافتشناسی به صورت میانگین ±انحراف استاندارد بیان شدهاند. دادهها به وسیله نرمافزار آماری SPSS نسخه ۱٦ و آزمون آماری واریانس یک طرفه (One-Way نسخه ۱۹ و آزمون آماری واریانس یک طرفه (Analysis of Variance: ANOVA بین گروهها با استفاده از آزمون توکی انجام شد و سطح

معنیداری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتايج

موارد مورد بررسی رنگ آمیـزی شـده توسط H & E در نمونههای بافت کبدی موشها در گروههای دریافت کننده ذرات و کنترل عبارت بودند از: آرایش سلول های بافت، وضعیت تریادهای (Triads) کبد، وضعیت سلولهای کبدی، سينوزوييدها (Sinusoids) و بررسي علايم تخريب بافتي، نکروز، تغییر در میزان تجمع چربی و فیبروز پروتال. بافت تهیه شده از کبد موش های کنترل دارای لوبول های کبدی کاملاً مشخص در اطراف یک ورید مرکزی بودند (شکل ۱). بافت کبدی در گروههای دریافت کننده هـر دو ذره تغییـرات چندی را تا قبل از هفته ششم بعد از تزریق در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد. ارزیابی بافتهای تهیه شده از کبد از هفته ششم در هر دو گروه دریافت کننده ذرات اکسید منگنز التهاب و پرخونی در ورید پروتال مرکزی را نـشان داد کـه تعدادی از سلولها به دلیل التهاب مزمن به درون این ورید نیز رانده شده بودند. تعدادی از سلولها نیز شرایط نکروتیک از خود نشان دادند. در هفته دهم سلولهای کبدی شروع به متفرق شدن کرده و نظم آنها به هم ریخت و سلولهای کبدی دچار تورم شدند و درون آنها از ماده کدر و ابر مانندی پر شد. این شرایط در هفته دوازدهم و چهاردهم در هر دو گروه ادامه پیدا کرد و افزایـشی در تعـداد سـلولهـای کوپفر (Kupffer Cells) کبدی نیے مےشاہدہ شد. در سلول های کبدی دریافت کننده ذرات از هفته هـشتم بـه بعـد ضمن کاهش در اندازه و قطرشان مواردی چون استازیس (Stasis)، از دست رفستن هسته (Anisonucleosis)، چند هـستهای شدن (Multinucleation)، التهاب و آسیب به مجرای صفراوی و شرایطی تحت عنوان واکنش مجرای (Ductular Reaction) به طور مشهود مشاهده شد (شکل ۱). رنگآمیزی تـری کـروم در کبـد وجـود ذرات ظریـف و شاخص کلاژن در اطراف عروق وریدی به دنبال تجویز هـر

دو ذره اکسید منگنز را مشخص کرد (شکل ۲) و آثار تخریب

در سلولهای هپاتوسیت و کوپفر به وضوح مشاهده شد.



شکل ۱ تصویر میکروسکوپ نوری (٤٠٠×) رنگآمیزی شده توسط H & E از برش های بافت کبدی در موش کنترل (الف)، دریافت کننده (۱۰۰میکروگـرم/ کیلـوگرم) نانوذرات (ب) و میکروذرات (ج) اکسید منگنز در روزهای که آسیبهای بافتی مشاهده شدند (جزئیات بیشتر در متن مقاله). تجمع تودههای ابری شکل در سلولهای بافت پارانشیم کبد در گروه دریافت کننده نانوذرات (ج) بهخوبی مشاهده میشود.







شکل ۲ تصویر میکروسکوپ نوری (٤٠٠×) رنگآمیزی شده به روش تری کروم ماسون از برش های بافت کبدی موش کنترل (الف) و موش های گروه دریافت کننده نانوذرات (ب) و میکروذرات (ج) اکسید منگنز (۱۰۰میکروگرم/ کیلوگرم)؛ تودههای ابری شکل در سیتوپلاسم هر دو گروه دریافت کننده اکسید منگنز مشاهده می شود.





شکل ۳ تصویر میکروسکوپ نوری (٤٠٠×) تهیه شده از برش های بافت کلیوی رنگ آمیزی شده توسط H & E در موش کنترل (الف) و موش هایی که نانوذرات (ب) و میکروذرات (ج) اکسید منگنز (۱۰۰میکروگرم/ کیلوگرم) را دریافت کردهاند. جزئیات بیشتر در ارتباط با هفتههایی که آسیبهای کلیوی در آن مـشاهده مـیشـوند در متن مقاله

> همچنین تغییرات ساختاری گستردهای در بافت کلیهها توسط رنگ آمیزی H & E (شکل ۳) و جونز (شکل ٤)

مشخص شد. کاهش در متوسط قطر گلومرولهای کلیوی در گروه دریافت کننده نانو ذرات نسبت به گروه کنترل و

Modares Journal of Medical Sciences: Pathobiology, 16(4), Winter 2014

میکروذرات در هفتههای ۸ تا ۱۶ و افزایش قطر گلومرول در هفته ۸ در گروه دریافت کننده میکرو ذرات اکسید منگنز نسبت به گروههای کنترل و نانو ذرات معنی دار (۰۰،×۹) بود (شکل ۵). میانگین تعداد سلولهای گلومرولی در گروه دریافت کننده نانو ذرات در مقایسه با کنترل در هفتههای ۸ تا ۱۶ کاهش معنی دار (۰۰،۰۷) داشت (شکل ۲). همچنین مقایسهٔ میانگین تعداد سلولهای لوله پیچیده نزدیک بین گروههای دریافت کننده ذرات اکسید منگنز و کنترل تفاوت معنی دار (۰،۰۰۶) را از هفته ۸ تا ۱۶ پس از تزریق در گروه دریافت کننده نانو دزرات در مقایسه با کنترل و دریافت کننده میکرو ذرات نشان درات در مقایسه با کنترل و دریافت کننده میکرو ذرات نشان قرات داد (شکل ۷). مشاهده برشهای تهیه شده از بافت بیضه داد (شکل ۷). مشاهده برشهای تهیه شده از بافت بیضه درا گویای این نکته است که ضخامت لایه اپی تلیوم لایه زاینده دیواره لولههای اسپرمساز (Seminiferous Tubules) فقط در

گروه دریافت کننده نانو ذرات از هفته هشتم به بعد به طور معنی دار (۹۰/۰۰) کاهش یافته و به ۲۰ میکرومتر رسیده است، در حالی که در گروه کنترل این لایه دارای ضخامتی حدود ۱۰۰ میکرومتر است. ضمن این که تعداد لولههای اسپرمساز در واحد میلیمتر مربع به طور معنی داری (۹۰/۰۰) کاهش نشان می دهد. تغییر شکل غیر طبیعی لولههای اسپرمساز همراه با تخریب و پراکنده شدن سلولهای اسپرمساز در حیوانات تحت درمان با نانو ذره اکسید منگنز طی هفتههای ساختار غیر طبیعی در گروه نانو ذرات افزایش یافته و تعداد میل اسپرمها در گروههای مورد تجویز کاهش نشان داد (شکل ۸). شکل ۹ تصویر نحوه اندازه گیری قطر گلومرول کلیه را نشان می دهد.



شکل ٤ نمونهای از تصویر میکروسکوپ نوری (٤٠٠×) تهیه شده از برشهای بافت کلیوی موشها رنگآمیزی شده به روش جونز در گروه کنترل (الف) در مقایسه بــا موشهای دریافت کننده نانوذرات (ب) و میکروذرات (ج) اکسید منگنز (۱۰۰ میکروگرم/ کیلوگرم)



شکل ۵ مقایسهٔ میانگین قطر گلومرول کلیهها بین گروههای کنترل و دریافت کننده نانو و میکرو ذرات اکسید منگنز (۱۰۰ میکروگرم/ کیلوگرم) هـر دو هفته یکبار به مدت چهارده هفته (۲۰۰۵ه).



شکل ۲ مقایسهٔ تعداد سلولهای گلومرول کلیهها بین گروههای کنترل و دریافت کننده نانو و میکرو ذرات اکسید منگنز (۱۰۰ میکروگرم/ کیلوگرم) هر دو هفته یکبار به مدت چهارده هفته (۲۰۰۵ه).



شکل ۷ مقایسهٔ تعداد سلولهای لوله پیچیده نزدیک کلیهها بین گروههای کنترل و دریافت کننده نانو و میکرو ذرات اکسید منگنز (۱۰۰ میکروگرم/ کیلوگرم) هر دو هفته یکبار به مدت چهارده هفته (۲۰/۰۰۹*).



شکل ۸ تصویر میکروسکوپ نوری (٤٠٠×) تهیه شده از بافت بیضه موش ها در گروه کنترل (الف) در مقایسه با همین بافت در موش های دریافت کننده نانوذرات (ب) و میکروذرات (ج) اکسید منگنز (۱۰۰ میکروگرم/ کیلوگرم وزن بدن)، رنگ آمیزی شده به روش E & H

آسیبهای بافتی و نانوذرات اکسید منگنز



شکل ۹ تصویر میکروسکوپی (۲۰۰×) بافت کلیه و فضای بینابینی توبولهای کلیوی؛ نوک پیکان بلنـد محلـی کـه در آن فـضای بـین توبـولهـای کلیـوی گروههای نانو ذره در مقایسه با کنترل افزایش یافته را به عنوان نشانه بروز ادم مشخص میکند. پیکان منقطع نشان دهنده ارتشاح سلولهای آماسی در بافت بینابینی است. پیکان کوتاه نشان دهنده تحلیل ارتفاع سلولهای توبولی است.

بحث

یافتههای بررسی حاضر بروز مشهود آسیبهای کبدی را از هفته ششم پـس از تزریـق هـر دو ذره اکـسید منگنـز را نـشان میدهد. در تصاویر میکروسکوپی رنگ آمیزی شده با H & E تودههای ابری شکلی در درون سلولهای کبدی به دنبال تجویز مزمن نانو و میکرو ذرات مشاهده شد، قـبلاً نیـز پژوهـشگران دیگری تودههای ابری شکل در درون سلولهای کبدی به دنبال تجویز نانو ذرات فلزی مانند نانو ذره طلا را گـزارش کـردهانـد [۱۱]. این پژوهشگران با استناد به یافتههای دانـشمندی بـه نـام دلمونته (Del Monte) و همکارانش در سال ۲۰۰۵ دلیل بروز چنین شرایطی را در سلولهای کبدی اختلال در عملکرد غـشا و ورود حجیم آب و یون سدیم به درون سلول ناشمی از اثر ذرات نانو عنوان کردهاند [۳۰]. این تورم سلولی می تواند همراه با نشت آنزیمهای هیدرولیز کننده لیزوزومی بوده و منجـر بـه تخریب سیتوپلاسم و تولید ماکرومولکولهای ابری شکل شود. گزارش شده است که اتمهای فلزی چون آهن (Fe) و منگنز (Mn) که دارای بیش از یک حالت اکسیداسیون هستند مایل به شرکت در واکنشهای اکسیداسیون و احیا هستند و تحت شرايط پروتوپلاسمي ممكن است باعث توليد راديكالهاي آزاد اکسیژن شوند. در تأیید این مسئله نـشان داده شـده اسـت کـه نانواکسید آهن (Fe₃O₄) می تواند سبب بـروز آسـیب کبـدی و

کلیوی شود [۳۱]. البته آثار تخریبی ناشی از تجویز غلطت مشابهی از نانو ذرات بر بافت کبدی و کلیوی در مقایسه با

حاضر تغییر در نواحی مختلف نفرون، ای کلیوی شامل گلومرول، لوله خميده نزديک به دنبال تماس مزمن با نانو ذرات اکسید منگنز را تأیید میکند. در تأیید این یافتهها میتوان گفت که کبد و کلیه ها به عنوان دو اندام تجمع نانو ذرات شناخته شدهاند [۳۷] و آسیبهای التهابی در اندامهای مختلف موش کوچک توسط روش بافتشناسی به دنبال تجویز نانو ذرات فلزی به صورت زیرجلدی، داخل صفاقی و داخل وریدی نشان داده شده است [۳۸]. دانشمندان دیگری نـشان دادهانـد کـه تجویز نانو ذرات پلیمری به میزان ۲۰ تا ۱۰۰ میلی گرم/ کیلـو گرم به مدت ۲ هفته سبب میشود تا این نانو ذرات توسط سلولهای کوپفر کبدی فاگوسیتوز شوند و به تـدریج در کبـد تجمع یابند و به واسطه افزایش تولید و رهایش میانجیهای سايتوكايني سبب بروز علايم التهابي در اين اندام شوند [٣٩]. لازم به ذکر است که دانشمندان مدعی شدهاند که پیچیـدهتـرین روش توزیع نانو ذرات در بدن به دنبال تجویز ایـن ذرات بـه صورت زیرجلدی، یعنی به همان روشی که در این پژوهش به کار گرفته شده است [٤٠]. نتایج بررسی حاضر گویای کاهش تعداد و اندازه گلومرولهای کلیوی در موش تحت تجویز با نانو ذرات اکسید منگنـز بـود. دانـشمندان کـاهش در تعـداد و اندازه گلومرول های کلیوی را مهمترین عامل خطر در بیماریهای مزمن کلیوی میدانند که منجر به بروز بیماریهای قلبی عروقی چون پرفشاری خون می شود [٤١]. ایـن ویژگـی نانوذرات فلزی سبب شده است تا در عمل نیز پژوه شگران از این تمایل زیاد نانو ذرات فلزی مانند نانو ذرات مغناطیسی اکسید آهن باردار برای اتصال به غشای پایه گلومرول های کلیوی برای تعیین تعداد و تغییر شکل و تخریب غشای پایه گلومرول های کلیهها در پژوهشهای علوم پایه استفاده کنند [۲3].

یافتههای این پژوهش دلالت بر تغییر در ساختار لولههای اسپرم ساز و کاهش لایه سلولهای زاینده آن در هر دو گروه دریافت کننده میکرو و نانو ذرات اکسید منگنز دارد. مطالعات دیگری به دنبال تجویز حاد نانو ذرات نقره در موشهای بزرگ نشان دادهاند که تماس با این ذرات، وابسته به اندازه، دوز تجویز گروه دریافت کننده میکروذرات در این پژوهش شدیدتر به نظر میرسد و شدت این آسیبها بر دو بافت با مرور زمان افزایش نیز مییابد. به عنوان یک مکانیسم پیشنهادی برای توجیه این مشاهدات می توان این نظریه را مطرح کرد که تخریب سیتوپلاسمی و هسته سلولهای کبدی به دنبال تجویز این ذرات گویای این نکته است که این ذرات با پروتئین ها و آنزیمهای بافت کبدی واکنش نشان داده و سبب اختلال در عملکردهای دفاعی علیه آنتی اکسیدانها در این بافتها شده و با توليد تركيبات داراي اكسيژن فعال باعث آتروفي (Atrophy) و نكروز در این بافتها شدهاست. البته یافتههای این یژوهش در امتداد و تأیید کننده یافتههای قبلی همین گروه تحقیقـی در ارتباط با آثار سمی این ذرات بر عوامل عملکرد سرمی در بدن موش هایی است که در تماس با همین غلظت از این ذرات بودهاند [۲۵، ۲۵]. برخی دانشمندان دلایل دیگری را برای تغییرات مشاهده شده در سلولهای کبدی مطرح میکنند؛ ایـن دانشمندان معتقدند که به دنبال تماس ترکیبات آسیبرسان به این بافت فعالیت بیش از حد طبیعی سلول های کبدی برای متابولیزه کردن و بیرون ریختن این ترکیبات سمی از بدن طبی مراحل سمزدایی سبب بروز این تغییرات در سلول های کبدی می شود [۳۲]. کلیه ها ۲۵ درصد از برون ده قلبی را دریافت میکنند و بنابراین بالاترین میـزان خطـر آسـیبدیـدگی را در مقابل نانو ذرات تجویز شده در بدن از خود نشان میدهند [۳۳، ۳۲]. آثار کشنده برخی از ترکیبات نانو نیـز بـر سـلولهـای كليوى و آثار التهابزاي آنها بر ايـن بافـت قـبلاً گـزارش شـده است [۳۵]. پژوهش ها نشان دادهاست که نانو ذراتی با ابعاد ۵۰ تا ۱۰۰ نانومتر می تواند سلول های مزانژیوم (Mesangium) کلیهها را هدف قرار دهند. همچنین نشان داده شده است که تماس طولانی مدت نانو ذرات با کلیهها نیز سبب چروکیده شدن سلول های این بافت به دلیل برداشت بیش از حد این نانو ذرات به درون این سلولها میباشد [۳٦]. یافته های تحقیق

آن در ریه نیز گزارش شده است [٤٦]. مولکول ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule 1) در جذب و اتصال سلول های التهابی به سلول های اندو تلیال و ایس تلیال دخالت داشته و نقـش فـرم محلـول ايـن مولكـول كـه ICAM-1 (Soluble ICAM-1) نامیده می شود در ارتباط با بروز شرایط یاتوفیزیولوژیک در بافتها نشان داده شده است [۷۷]. افزایش این ترکیب به دنبال تجویز زیر جلدی نانو ذره تیتانیوم دی اکسید به موش های کوچک [٤٨] و به دنبال تماس استنشاقی با نانو ذرات سلیکا به صورت برونتنی نشان داده شده است [٤٩]. این مکانیسم هم می تواند سومین گزینه ییشنهادی برای آثار مشاهده شده از این ذرات در بافتهای مورد مطالعه در این پژوهش باشد. با توجه به ثابت بودن دوز تجویز میکرو و نانو ذرات اکسید منگنز در این یژوهش به عنوان یک مقایسه می توان گفت که کاهش اندازه این ذرات سبب تشدید آسیبهای ناشی از تماس مزمن آنها بر بافت کبدی و کلیوی شده و به دلیل توان بیشتر عبور نانو ذرات از سد خون- بيضه اين ذرات سبب وارد آمدن جراحت شديدتري بر این بافت شدهاند.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از زحمات اساتید معظم جناب آقای دکتر محمد جلالی ندوشن، جناب آقای دکتر دلشاد و سرکار خانم دکتر زهره مظاهری که در طول اجرای این پایاننامه صمیمانه ما را یاری فرمودند تقدیر و تشکر می شود.

- Kipen HM, Laskin DL. Smaller is not always better: nanotechnology yields nanotoxicology. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2005; 289(5): L696-7.
- [2] Appenroth KJ. Definition of "heavy metals" and their role in biological systems. In: Sherameti I,

شده و مدت زمان تماس با این ذرات می تواند باعث تغییر در ابعاد و شکل لولههای اسیرمساز بیضهها در موشهای بزرگ آزمایشگاهی شود [27]. به تازگی بررسی نانو ذرات فلزی کروم-کبالت (Cobalt-Chromium) نشان داد که این نانو ذرات دارای آثار نامطلوبی بر عملکرد سیستم تولید مثلی در موشهای نر به دلیل خاصیت شدید آنتی اکسیدانی هستند [۲۰]. البته در ارتباط با نانو ذرات اکسید منگنز مطالعات برون تنبی روی سلولای Pc12 نیز نشان داده است که تولید انواع گونههای اکسیژن فعال در این سلولها به دنبال تماس با این نانو ذرات با ابعاد ٤٠ نانومتر افزایش یافته و سبب تخریب دوپامین (Dopamine)، دی هیدروکسی فنیلاکتیک اسید (Dihydroxyphenylacetic Acid) و همو وانیلیک اسید (Homovanillic Acid) در این سلول ها می شود [22]. اغلب مطالعاتی که به بررسی آثار آسیبرسان اکسیدهای فلزی به خصوص در ابعاد نانو پرداختهاند این آثار را ناشی از افزایش تولید ترکیبات فعال اکسیژندار میدانند. این پدیده می تواند به عنوان یکی از مکانیسم های پیشنهادی برای آثار آسیب رسان این ذرات بر بافت بیضه و دو بافت دیگر مطرح شود. در ارتباط با نانو ذرات فلزی دیگری مثل نانو ذره نقره نشان داده شده است که این نانو ذرات می تواند سبب تنظیم افزایشی گیرنده اینترلوکین یک در سلول ها و در نتیجه سبب برانگیخته شدن فرآیندهای التهابی و آسیب بـه سـدهای خونی شوند. این امر می تواند توجیه کننده یافتههای یژوهش حاضر در ارتباط با بروز آسیب در بافت بیضه با وجود سد

خون- بیضه به دنبال تجویز هر دو ذره اکسید منگنز باشد [20]. ضمن این که به دنبال تجویز استنشاقی این نانو ذره آثار التهابی

Varma A (Editors). Soil heavy metals. New York: Springer, USA, 2010; p: 19-29.

[3] Pujalté I, Passagne I, Brouillaud B, Tréguer M, Durand E, Ohayon-Courtès C, L'Azou B. Cytotoxicity and oxidative stress induced by different metallic nanoparticles on human

منابع

kidney cells. Part Fibre Toxicol 2011; 8: 10.

- [4] Oberdörster G, Ferin J, Lehnert BE. Correlation between particle size, in vivo particle persistence, and lung injury. Environ Health Perspect 1994; 102(Suppl 5):173-9.
- [5] Johnston HJ, Hutchison G, Christensen FM, Peters S, Hankin S, Stone V. A review of the in vivo and in vitro toxicity of silver and gold particulates: particle attributes and biological mechanisms responsible for the observed toxicity. Crit Rev Toxicol 2010; 40(4): 328-46.
- [6] Hirn S, Semmler-Behnke M, Schleh C, Wenk A, Lipka J, Schäffler M, Takenaka S, Möller W, Schmid G, Simon U, Kreyling WG. Particle size-dependent and surface charge-dependent biodistribution of gold nanoparticles after intravenous administration. Eur J Pharm Biopharm 2011; 77(3): 407-16.
- [7] Choi HS, Liu W, Misra P, Tanaka E, Zimmer JP, Itty Ipe B, Bawendi MG, Frangioni JV. Renal clearance of quantum dots. Nat Biotechnol 2007; 25(10): 1165-70.
- [8] Lewinski N, Colvin V, Drezek R. Cytotoxicity of nanoparticles. Small 2008; 4(1): 26-49.
- [9] Chen Z, Meng H, Xing G, Chen C, Zhao Y, Jia G, Wang T, Yuan H, Ye C, Zhao F, Chai Z, Zhu C, Fang X, Ma B, Wan L. Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. Toxicol Lett 2006; 163(2): 109-20.
- [10] Wang J, Zhou G, Chen C, Yu H, Wang T, Ma Y, Jia G, Gao Y, Li B, Sun J, Li Y, Jiao F, Zhao Y, Chai Z. Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. Toxicol Lett 2007; 168(2): 176-85.

- [11] Abdelhalim MA, Jarrar BM. Histological alterations in the liver of rats induced by different gold nanoparticle sizes, doses and exposure duration. J Nanobiotechnology 2012; 10: 5.
- [12] Geraets L, Oomen AG, Schroeter JD, Coleman VA, Cassee FR. Tissue distribution of inhaled micro- and nano-sized cerium oxide particles in rats: results from a 28-day exposure study. Toxicol Sci 2012; 127(2): 463-73.
- [13] De Jong WH, Borm PJ. Drug delivery and nanoparticles: applications and hazards. Int J Nanomedicine 2008; 3(2): 133-49.
- [14] Li C, Taneda S, Taya K, Watanabe G, Li X, Fujitani Y, Nakajima T, Suzuki AK. Effects of in utero exposure to nanoparticle-rich diesel exhaust on testicular function in immature male rats. Toxicol Lett 2009; 185(1): 1-8.
- [15] Yauk C, Polyzos A, Rowan-Carroll A, Somers CM, Godschalk RW, Van Schooten FJ, Berndt ML, Pogribny IP, Koturbash I, Williams A, Douglas GR, Kovalchuk O. Germ-line mutations. DNA damage, and global mice hypermethylation in exposed to particulate air pollution in an urban/industrial location. Proc Natl Acad Sci U S A 2008; 105(2): 605-10.
- [16] Roels HA, Ghyselen P, Buchet JP, Ceulemans E, Lauwerys RR. Assessment of the permissible exposure level to manganese in workers exposed to manganese dioxide dust. Br J Ind Med 1992; 49(1): 25-34.
- [17] Hobbesland A, Kjuus H, Thelle DS. Study of cancer incidence among 6363 male workers in four Norwegian ferromanganese and silicomanganese producing plants. Occup

78

Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-05-13

آسیبهای بافتی و نانوذرات اکسید منگنز

Environ Med 1999; 56(9): 618-24.

- [18] Mohammadi Fartkhooni F, Noori A, Momayez M, Sadeghi L, Shirani K, Yousefi Babadi V. The effects of nano titanium dioxide (TiO2) in spermatogenesis in wistar rat. Euro J Exp Bio 2013; 3(4): 145-9.
- [19] Al Faraj A, Fauvelle F, Luciani N, Lacroix G, Levy M, Crémillieux Y, Canet-Soulas E. In vivo biodistribution and biological impact of injected carbon nanotubes using magnetic resonance techniques. Int J Nanomedicine 2011; 6: 351-61.
- [20] Wang Z, Chen Z, Zuo Q, Song F, Wu D, Cheng W, Fan W. Reproductive toxicity in adult male rats following intra-articular injection of cobalt-chromium nanoparticles. J Orthop Sci 2013; 18(6): 1020-6.
- [21] Ha Y, Shin JS, Lee DY, Rhim T. Fluorescently Labeled Nanoparticles Enable the Detection of Stem Cell-Derived Hepatocytes. Bull Korean Chem Soc 2012; 33(6): 1983-8.
- [22] Kong WH, Park K, Lee MY, Lee H, Sung DK, Hahn SK. Cationic solid lipid nanoparticles derived from apolipoprotein-free LDLs for target specific systemic treatment of liver fibrosis. Biomaterials 2013; 34(2): 542-51.
- [23] Kim JS, Yoon TJ, Yu KN, Kim BG, Park SJ, Kim HW, Lee KH, Park SB, Lee JK, Cho MH. Toxicity and tissue distribution of magnetic nanoparticles in mice. Toxicol Sci 2006; 89(1): 338-47.
- [24] Nosrati N, Hassanpour-Ezzati M, Mousavi SZ, Rahmanifar MS, Rezagholiyan S. Comparison of MnO₂ nanoparticles and microparticles distribution in CNS and muscle and effect on acute pain threshold in rats. Nanomed J 2013;

1(3):180-90.

- [25] Rezagolian S, Hassanpour-Ezatti M, Mousavi SZ, Rahmanifar MS, Nosrati N. Comparison of chronic administration of manganese oxide micro and nanoparticles on liver function parameters in male rats. Daneshvar Med 2013; 20(106): 1-13.
- [26] Geiser M, Kreyling WG. Deposition and biokinetics of inhaled nanoparticles. Part Fibre Toxicol 2010; 7: 2.
- [27] Zhang Y, Yang Y, Zhang Y, Zhang T, Ye M. Heterogeneous oxidation of naproxen in the presence of α-MnO₂ nanostructures with different morphologies. Appl Catal B Environ 2012; 127: 182-9.
- [28] Pearse AE. Histochemistry. Theoritical and applied. Analytical technology. 4th ed, Edinburgh: Churchill-Livingstone, 1985; p: 441-1055.
- [29] Escobedo G, Arjona-Román JL, Meléndez-Pérez R, Suárez-Álvarez K, Guzmán C, Aguirre-García J, Gutiérrez-Reyes G, Vivas O, Varela-Fascinetto G, Rodríguez-Romero A, Robles-Díaz G, Kershenobich D. Liver exhibits thermal variations according to the stage of fibrosis progression: A novel use of modulated-differential scanning calorimetry for research in hepatology. Hepatol Res 2013; 43(7): 785-94.
- [30] Del Monte U. Swelling of hepatocytes injured by oxidative stress suggests pathological changes related to macromolecular crowding. Med Hypotheses 2005; 64(4): 818-25.
- [31] Ma P, Luo Q, Chen J, Gan Y, Du J, Ding S, Xi Z, Yang X. Intraperitoneal injection of magnetic Fe₃O₄-nanoparticle induces hepatic and renal tissue injury via oxidative stress in

79

Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-05-13

Modares Journal of Medical Sciences: Pathobiology, 16(4), Winter 2014

mice. Int J Nanomedicine 2012; 7: 4809-18.

- [32] Patel JM, Bahadur A. Histopathological Manifestations of Sub Lethal Toxicity of Copper Ions in *Catla catla*. Am Euras J Toxicol Sci 2011; 3(1): 1-5.
- [33] Nel A, Xia T, M\u00e4dler L, Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel. Science 2006; 311(5761): 622-7.
- [34] Deelman LE, Declèves AE, Rychak JJ, Sharma K. Targeted renal therapies through microbubbles and ultrasound. Adv Drug Deliv Rev 2010; 62(14): 1369-77.
- [35] Wu J, Nyborg WL. Ultrasound, cavitation bubbles and their interaction with cells. Adv Drug Deliv Rev 2008; 60(10): 1103-16.
- [36] L'azou B, Jorly J, On D, Sellier E, Moisan F, Fleury-Feith J, Cambar J, Brochard P, Ohayon-Courtès C. In vitro effects of nanoparticles on renal cells. Part Fibre Toxicol 2008; 5: 22.
- [37] Choi CH, Zuckerman JE, Webster P, Davis ME. Targeting kidney mesangium by nanoparticles of defined size. Proc Natl Acad Sci U S A 2011; 108(16): 6656-61.
- [38] Flesken-Nikitin A, Toshkov I, Naskar J, Tyner KM, Williams RM, Zipfel WR, Giannelis EP, Nikitin AY. Toxicity and biomedical imaging of layered nanohybrids in the mouse. Toxicol Pathol 2007; 35(6): 806-12.
- [39] Fernández-Urrusuno R, Fattal E, Féger J, Couvreur P, Thérond P. Evaluation of hepatic antioxidant systems after intravenous administration of polymeric nanoparticles. Biomaterials 1997; 18(6): 511-7.
- [40] Thanos C, Sandor M, Jong Y, Jacob J, Yip KP, Harper J, Morrell C, Scherer J and Mathiowitz

E. Inter-species uptake of polymeric particles. Mater Res Proc 1998; 550: 65-70.

- [41]Brenner BM, Garcia DL, Anderson S. Glomeruli and blood pressure. Less of one, more the other? Am J Hypertens 1988; 1(4 Pt 1): 335-47.
- [42] Bennett KM, Zhou H, Sumner JP, Dodd SJ, Bouraoud N, Doi K, Star RA, Koretsky AP. MRI of the basement membrane using charged nanoparticles as contrast agents. Magn Reson Med 2008; 60(3): 564-74.
- [43] Gromadzka-Ostrowska J, Dziendzikowska K, Lankoff A, Dobrzyńska M, Instanes C, Brunborg G, Gajowik A, Radzikowska J, Wojewódzka M, Kruszewski M. Silver nanoparticles effects on epididymal sperm in rats. Toxicol Lett 2012; 214(3): 251-8.
- [44] Pisanic TR 2nd, Blackwell JD, Shubayev VI, Fiñones RR, Jin S. Nanotoxicity of iron oxide nanoparticle internalization in growing neurons. Biomaterials 2007; 28(16): 2572-81.
- [45] Trickler WJ, Lantz SM, Murdock RC, Schrand AM, Robinson BL, Newport GD, Schlager JJ, Oldenburg SJ, Paule MG, Slikker W Jr, Hussain SM, Ali SF. Silver nanoparticle induced blood-brain barrier inflammation and increased permeability in primary rat brain microvessel endothelial cells. Toxicol Sci 2010; 118(1): 160-70.
- [46] Yazdi AS, Guarda G, Riteau N, Drexler SK, Tardivel A, Couillin I, Tschopp J. Nanoparticles activate the NLR pyrin domain containing 3 (Nlrp3) inflammasome and cause pulmonary inflammation through release of IL-1α and IL-1β. Proc Natl Acad Sci U S A 2010; 107(45): 19449-54.

80

Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-05-13

مجله علوم پزشکی مدرس: آسیب شناسی زیستی، دوره ۱۶، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۲

- [47] Gearing AJ, Hemingway I, Pigott R, Hughes J, Rees AJ, Cashman SJ. Soluble forms of vascular adhesion molecules, E-selectin, ICAM-1, and VCAM-1: pathological significance. Ann N Y Acad Sci 1992; 667: 324-31.
- [48] Gonçalves DM, Girard D. Titanium dioxide(TiO2) nanoparticles induce neutrophil influxand local production of several pro-

inflammatory mediators in vivo. Int Immunopharmacol 2011; 11(8): 1109-15.

[49] Kasper J, Hermanns MI, Bantz C, Maskos M, Stauber R, Pohl C, Unger RE, Kirkpatrick JC. Inflammatory and cytotoxic responses of an alveolar-capillary coculture model to silica nanoparticles: comparison with conventional monocultures. Part Fibre Toxicol 2011; 8(1): 6.